Lane Medical Library

Aus der Bakteriologischen Abteilung des Krankenhauses am Friedrichshain zu Berlin (Abteilungsdirektor: Dr. Schiff)

Untersuchungen über das Hämagglutinin der Kartoffelknolle

Inaugural-Dissertation

verfaßt

und der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich Wilhelms-Universität Berlin

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Henriette Marcusson
geb. Begun
approbierte Aerztin

Jena
Gustav Fischer
1925

Tag der Promotion 23.7.25.

79

Aus der Bakteriologischen Abteilung des Krankenhauses am Friedrichshain zu Berlin (Abteilungsdirektor: Dr. Schiff)

Untersuchungen über das Hämagglutinin der Kartoffelknolle

Inaugural-Dissertation

verfaßt

und der Hohen Medizinischen Fakultät

der

Friedrich Wilhelms-Universität Berlin

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Henriette Marcusson
geb. Begun
approbierte Aerztin

Jena
Gustav Fischer
1925

Dekan: Geh. Med. Rat. Prof. Dr. Lubarsch

Referent: Geheimrat Prof. Dr. Hahn.

Abdruck aus der
Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie.
Bd. 45. 1925.
Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Die Forschungen von Kobert und seiner Schule haben uns die Kenntnis einer Reihe von Hämagglutininen pflanzlicher Herkunft vermittelt (vgl. die zusammenfassenden Darstellungen von Landsteiner, Raubitschek, Schiff). Näher untersucht ist das Rizin (Stillmark), das Abrin (Kobert, Hellin), das Krotin (Elfstrand) und das Robin (Kobert, Lau). Die beiden erstgenannten werden aus dem Samen von Euphorbiaceen gewonnen; die beiden letzteren aus dem Samen bzw. der Rinde von Papilionaceen. Seither wurden Hämagglutinine auch in den Samen anderer Papilionaceen, so in Bohnen, Erbsen, Linsen, gefunden (Landsteiner und Raubitschek, Wienhaus, Assmann, Komatsuhara u. a.) Außer bei Euphorbiaceen und Papilionaceen sind in umfangreichen älteren Untersuchungen — Eisler und v. Portheim prüften systematisch 99 Spezies von 55 Gattungen — im wesentlichen nur noch bei der Familie der Solanaceen, und zwar einzig bei der Gattung Datura, Hämagglutinine gefunden worden[1]).

Hämagglutinine in höheren Pflanzen wären also nach den bisherigen Angaben recht selten. Es ist aber zu vermuten, daß sich die Liste der hämagglutininführenden Pflanzen bei weiterer Nachforschung noch erheblich verlängern wird. Für die Solanaceen ergibt sich die Unvollständigkeit der bisherigen Angaben aus unveröffentlichten Beobachtungen von Schiff, der auch bei der Gattung Solanum, und zwar bei

1) Die in höheren Pilzen beschriebenen Hämagglutinine (Abel und Ford, Friedberger und Brossa u. a.) sind hier nicht berücksichtigt.

Solanum tuberosum, der Kartoffelpflanze, und bei Solanum lycopersicum, der Tomate, Hämagglutinine nachweisen konnte. Die Hämagglutinine finden sich bei ersterer in der Knolle, bei letzterer im Fruchtsaft. Auf Anregung von Herrn Dr. Schiff habe ich das Hämagglutinin der Kartoffelknolle näher untersucht, worüber nachstehend berichtet werden soll.

Allgemeine Versuchstechnik.

Gewinnung des Agglutinins: Die Kartoffeln werden sauber abgewaschen, gut abgetrocknet, geschält und auf einem Reibeisen verrieben. Dieser Brei wird filtriert und liefert im Filtrat einen bräunlichen opaleszierenden Saft. Die bräunliche Verfärbung trat auch bei verschiedenen anderen Methoden der Gewinnung des Kartoffelsaftes auf, und zwar auch wenn eine Berührung des Saftes mit Metallflächen sorgfältig vermieden wurde. In einem Teil der Versuche wurde der Kartoffelbrei noch vor dem Filtrieren mit der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, 24 Stunden im Eisschrank aufgehoben und dann erst filtriert. In der Wirksamkeit besteht keine Differenz, wenn man den Gehalt an wirksamer Substanz berücksichtigt. Der gewonnene Saft wurde im Eisschrank aufgehoben und in der Regel unmittelbar oder einige Tage nach der Herstellung verwandt. Wo älteres Material benutzt wurde, ist dies an den betreffenden Stellen ausdrücklich angegeben.

Vorkommen des Kartoffelagglutinins: Während die bisher bekannten Hämagglutinine sich fast ausschließlich in den Samen, ausnahmsweise in der Rinde vorfanden, wurde das hier zu besprechende Agglutinin in der Knolle der Kartoffelpflanze nachgewiesen. Biologisch besteht zwischen diesen Fundorten möglicherweise ein Zusammenhang. Einzelne Autoren, so Wienhaus, weisen darauf hin, daß das Agglutinin vor allem dort vorkommt, wo eine Anhäufung von Reservestoffen erfolgt. Reservestoffe für junge Pflanzen werden nun wie in den Samen, auch in den Wurzelknollen angesammelt. Es liegt deshalb nahe, bei den Agglutininen der Samen und bei denen der Wurzelknolle die gleiche physiologische Funktion zu vermuten, besonders da beim Auskeimen die Agglutinine in die Keimlinge übergehen. Man könnte beispielsweise an Stoffe denken, die für das Wachstum des Keimlings von Bedeutung sind (vielleicht den Vitaminen vergleichbar)[1]).

1) Untersuchungen in dieser Richtung sind im Gange.

Die von mir untersuchten Kartoffeln waren gewöhnliche Handelssorten, die in den Monaten Februar bis Juni 1925 in Berlin gekauft waren. Der Agglutiningehalt der verschiedenen Kartoffelknollen schwankte im allgemeinen nicht sehr stark, immerhin fanden sich unter im ganzen 19 untersuchten Knollen einmal eine solche, deren Saft ganz unwirksam war, ein zweites Mal eine schwach wirksame. Diese beiden zeigten eine Anzahl grüne Sprossen von mehreren Zentimetern Länge. Die Knollen mit wirksamem Agglutinin waren dagegen noch nicht ausgekeimt. Einzelheiten zeigt der nachstehende Versuch.

Versuch 1. Prüfung des Agglutiningehalts verschiedener Kartoffeln.

Technik: Gewinnung des Kartoffelsaftes wie oben beschrieben. Zu je 0,5 ccm Saftverdünung werden 0,2 ccm gewaschener menschlicher Blutkörperchen hinzugefügt. Die verwendete Blutkörperchenaufschwemmung entspricht etwa einer 3″, auf die übliche Weise hergestellten Verdünnung. Nach Abgießen des Serums wurde vom Blutkuchen durch Schütteln eine konzentrierte Blutkörperchenaufschwemmung gewonnen und von dieser 0,2 ccm auf 10 ccm mit physiol. Kochsalzlösung aufgefüllt. (Etwa 2 Proz. Vollblut.) Nach Zufügung der Blutkörperchen blieben die Röhrchen bei Zimmertemperatur. Die Ablesung erfolgte nach 2 Stunden und nach 24 Stunden (Stehen über Nacht) stets mit bloßem Auge.

Versuch 1.

Agglutination von Menschenblutkörperchen durch den Saft verschiedener Kartoffeln, eines stark und zweier weniger wirksamer Säfte.

Kartoffelsaftverdünnung		KS I + Blutk. a		KS II + Blutk. a		KS III + Blutk. a		KS III + Blutk. b		KS III + Blutk. c	
		nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h
	0,5	θ	θ	θ	θ	—	—	—	—	(+)	(+)
	0,25	VH	VH	VH	VH	—	—	—	—	(+)	(+)
	0,1	+++V	+++V	+++V	++V	—	—	—	—	(+)	(+)
1/10	0,5	+++	++++	++	++	—	—	—	—	±	(+)
	0,25	++	+++	+	+	—	—	—	—	±	±
	0,1	+(+)	+++	+	+	—	—	—	—	±	±
1/100	0,5	+(+)	++	—	(+)	—	—	—	—	—	—
	0,25	+	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,1	(+)	+	—	—	—	—	—	—	—	—
1/1000	0,5	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,25	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

V = Verfärbung. H = Hämolyse.
+++++ = ein fester Klumpen. ++++ = sehr starke Agglu-

tination. +++ = starke Agglut. ++ = mäßig starke Agglut. + = schwache Agglut. (+) = eben noch deutlich erkennbare Agglutination. — = keine Agglut. θ = nicht angesetzt. ± = fragliche Agglutination.

KS I = Saft einer typisch wirksamen Kartoffel.

KS II = Saft einer keimenden, schwächer wirkenden Kartoffel.

KS III = Saft einer keimenden, kaum wirksamen Kartoffel.

Der erste Versuch stellt neben einem typisch wirksamen Kartoffelsaft KS I das Verhalten eines schwächer wirkenden KS II und des einzigen nahezu völlig unwirksam befundenen Saftes KS III dar. Wie die Tabelle zeigt, verhalten sich die Blutkörperchen verschiedener Individuen diesem letzten Saft gegenüber ungleich. So wurden zwei geprüfte Blutkörperchensorten gar nicht beeinflußt, bei einer dritten Sorte war die agglutinierende Wirkung zwar nur sehr schwach, aber bis zu zwanzigfacher Verdünnung doch noch deutlich erkennbar.

Wirkung des Saftes auf Blutkörperchen.

Der Kartoffelsaft wirkte auf menschliche Blutkörperchen sowohl hämolysierend wie agglutinierend. In starken Saftkonzentrationen trat eine schmutzig bräunliche bis schwärzliche Verfärbung auf. Es handelte sich dabei nicht nur um eine Verdeckung der Eigenfarbe der Blutkörperchen, sondern um eine Veränderung des Hämoglobins selbst. Wird die Konzentration des Kartoffelsaftes herabgesetzt, so kommt es zur Hämolyse ohne Verfärbung, bei weiterer Verdünnung wird die Hämolyse schwächer und schwächer, die Agglutination tritt nun rein in die Erscheinung. Einzelheiten zeigt der nachstehende Versuch 2.

Versuch 2.

Hämolysierende und agglutinierende Wirkung von frischem Kartoffelsaft auf menschliche Blutkörperchen.

Kartoffelsaft I vom 22. II. 1925. Menschliche Blutkörperchen 3522. Gesamtvolumen 0,7 ccm (0,5 Saftverdünnung + 0,2 Blutkörperchenaufschwemmung).

Saftverdünnung		Agglutination		Hämolyse	
		nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h
	0,5	+++	θ	—	k.
	0,25	++	θ	—	„
	0,15	++	θ	—	„
	0,1	++	θ	—	f. k.
1/10	0,5	++	++	—	Spur
	0,25	+	+	—	—
	0,15	+	+	—	—
	0,1	+	+?	—	—
1/100	0,5	(+)	(+)	—	—
	0,25	(+)	(+)	—	—
	0,15	(+)	(+)	—	—
	0,1	(+)	(+)	—	—
1/1000	0,5	+	—	—	—

k. = komplett, f. k. = fast komplett.

Da sich meine Untersuchungen lediglich mit der Hämagglutination, nicht mit der Hämolyse beschäftigen sollten, so war es erwünscht, die Hämolyse auszuschalten. Dies gelingt leicht, wenn der Kartoffelsaft 60 Minuten auf 56° erhitzt wird. Die Hämolyse bleibt dann auch in den höchsten Konzentrationen aus, während der Agglutinationstiter nicht im mindesten abgeschwächt ist. Die bräunliche Verfärbung des Saftes in den stärksten Konzentrationen läßt sich dagegen durch diese Methode auch nicht ausschalten.

Versuch 3.

Wirkung von inaktiviertem Kartoffelsaft (= K 56°) auf menschliche Blutkörperchen.

K 56°		Agglutination		K 56°		Agglutination	
Saftverdünnung		nach 2 h	n. 24 h	Saftverdünnung		nach 2 h	n. 24 h
	0,5	±VN	VN	1/100	0,5	+	+
	0,25	++	++		0,25	(+)	(+)
	0,15	++	++		0,15	(+)	(+)
	0,1	++	++		0,1	(+)	(+)
1/10	0,5	+++	+++	1/1000	0,5	—	—
	0,25	++	++		0,25	—	—
	0,15	+	+				
	0,1	+	+				

V = bräunlich-schwarze Verfärbung. N = Niederschlag.

Wie der Versuch zeigt, ist die Agglutination nach dem Erhitzen auch in den ersten Röhrchen deutlich, in denen sie vorher (Versuch 2) durch die Hämolyse verdeckt war.

Wirkung auf Blutkörperchen verschiedener Tierarten.

Bei einem rohen Vergleich des Kartoffelagglutinins mit der Wirkung anderer Phytagglutinine erscheint die Wirksamkeit des Kartoffelagglutinins im Durchschnitt geringer als die der meisten anderen Phytagglutinine. Es muß aber dabei berücksichtigt werden, daß die rohen Titerwerte der verschiedenen Autoren sich weder untereinander noch mit unseren Werten ohne weiteres vergleichen lassen, weil die Agglutininlösungen nicht immer mit derselben Technik her-

Ver-

Wirkung des Kartoffelsaftes auf

KS Kartoffelsaft-Verdünnung		Blut							
		Kaninchen		Maus		Ratte		Rind	
		nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24	nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h
	0,1	+++	++++	+++	++++	+++	++++	++++	++++
1/10	0,5	+++	+++(+)	+++	++++	++(+)	++++	+++	+++(+)
	0,25	++(+)	+++	++	+++	++(+)	+++	+++	+++(+)
	0,1	++	+++	++	+++	+(+)	++(+)	+	+++
1/100	0,5	+(+)	++(+)	+(+)	+++	+	++(+)	—	±
	0,25	+	++	+(+)	+++	+)	++(+)	—	—
	0,1	+	+	(+)	++	—	++(+)	—	—
1/1000	0,5	(+)	(+)	—	—	—	++	—	—
	0,25	—	(+)	—	—	—	+	—	—
	0,1	—	+	—	—	—	+	—	—
1/10000	0,5	—	—	—	—	—	+	—	—
	0,25	—	—	—	—	—	+	—	—
	0,1	—	—	—	—	—	(+)	—	—
1/100000	0,5	—	—	—	—	—	—	—	—

gestellt wurden. Die verschiedene Beschaffenheit des Ausgangsmaterials — es handelte sich einerseits um die recht harten Samen der Rizinuspflanze, bzw. um Bohnen und Erbsen, andererseits um die weichen, wasserreichen Knollen der Kartoffel — steht einer gleichartigen Technik hindernd entgegen. Man wird im allgemeinen annehmen können, daß das Agglutinin in der Kartoffelknolle von vornherein stärker verdünnt ist, und man wird jedenfalls in der schwächeren Wirksamkeit des Kartoffelagglutinins keinen grundsätzlichen Unterschied gegenüber anderen pflanzlichen Agglutininen erblicken dürfen.

Bei einem Vergleich muß nun weiter berücksichtigt

werden, daß in der Empfindlichkeit der verschiedenen Blutarten gegenüber einem bestimmten Agglutinin sehr erhebliche Unterschiede bestehen können. Beispielsweise ist das Rizin nach Angaben von Kobert für Tauben- und Menschenblut in 200fach stärkerer Verdünnung wirksam als für das Blut von Pferd und Igel. Gegenüber anderen Agglutininen bestehen ebenfalls starke Unterschiede in der Empfindlichkeit der einzelnen Tierarten. Auch für das Kartoffelagglutinin sind die von mir geprüften Tierblutkörperchen — nachdem zunächst der größere Teil des anhaftenden Serums durch mehr-

such 4.
Blutkörperchen verschiedener Tierarten.

von:

Schwein		Pferd		Meerschweinchen		Hammel		Mensch	
nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h
++++	++++	(+)	—	++++	++++	+++	++++	++++	++++
+++	++++	+	—	++	+++	++	+++	+++	+++
+++	+++(+)	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++
++	+++(+)	—	(+)?	++	+++	+++	+++	++	++
+(+)	+++	—	—	++	+++	+	++	++	++
+(+)	+++	—	—	+(+)	++	—	++	++	++
+	++	—	—	+	+	—	—	+	+
(+)	(+)	—	—	(+)	+	—	—	(+)	+
—	±	—	—	±	+	—	—	+	+
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

mals wiederholtes Waschen entfernt worden war — nicht alle in gleichem Maße empfänglich. Dies ergibt sich aus der Tabelle Versuch 4.

Ordnet man die Tierarten nach ihrer Empfindlichkeit, so ergibt sich die nachstehende Reihe für das Kartoffelagglutinin:

Reihenfolge der Empfindlichkeit für das Kartoffelagglutinin.

Tierart	Verdünnung	Tierart	Verdünnung
Ratte	50 000	Maus	500
Kaninchen	5 000	Hammel	200
Mensch-Meerschweinchen	2 000	Rind	50
Schwein	1 000	Pferd	20

Zum Vergleich lasse ich die Angaben von Kobert für das Rizin und Abrin folgen.

Reihenfolge der Empfindlichkeit für das Rizin und Abrin. Heffters Handbuch der experim. Pharm., Artikel Jacoby, Rizin und Abrin, Bd. 2, Tabelle nach Kobert. Vergleichende Uebersicht über die Einwirkung reinen Rizins auf rote Blutkörperchen.

No.	Rizin		No.	Abrin	
	Tierart	Verdünnung		Tierart	Verdünnung
1	Taube	10 000 000	1	Hund	16 000 000
2	Meerschweinchen	10 000 000	2	Pferd	4 000 000
3	Hund	4 000 000	3	Katze	1 000 000
4	Ziege	4 000 000	4	Kaninchen	1 000 000
5	Erwachsener Mensch	2 000 000	5	Igel	1 000 000
6	Neugeborener „	2 000 000	6	Mensch	200 000
7	Katze	2 000 000	7	Schwein	200 000
8	Ratte	2 000 000	8	Rind	200 000
9	Kaninchen	2 000 000	9	Kalb	200 000
10	Huhn	2 000 000	10	Meerschweinchen	200 000
11	Schwein	1 000 000	11	Hammel	200 000
12	Hammel	400 000	12	Taube	200 000
13	Rind	400 000	13	Huhn	200 000
14	Frosch	400 000			
15	Kröte	400 000			
16	Seehase	400 000			
17	Igel	200 000			
18	Pferd	200 000			

Wenn man die verschiedenen Agglutinine betrachtet, so besteht keine völlige Uebereinstimmung in der Reihenfolge der Empfindlichkeit, dennoch treten gewisse Gemeinsamkeiten hervor: Pferde- und Rinderblutkörperchen sind gegen die drei Phytagglutinine relativ wenig empfindlich. Gegenüber dem Phasin zeigen die verschiedenen Tierarten wieder ein anderes Verhalten. Ich lasse zum Vergleich eine Tabelle von Landsteiner und Raubitschek folgen:

Tabelle von Landsteiner und Raubitschek (Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 45, 1908, H. 7).

Blutart	Bohnen	Erbsen	Linsen	Wicken
Mensch	800	40	20	20
Pferd	16 000	128	64	128
Kaninchen	8 000	1000	2000	200
Schaf	1 600	4	—	—
Taube	32 000	schwach	schwach	400
Karpfen	800	400	200	10
Frosch	400	80	—	8

Eine relativ geringe Empfindlichkeit der Pferdeblutkörperchen ist auch gegenüber den Extrakten aus Erbsen, Linsen und Wicken zu erkennen. Dafür sind aber Pferdeblutkörperchen hochempfindlich gegen Bohnenextrakt.

Ruß und Oesterlin geben für den Extrakt der Sojabohne folgende Empfindlichkeitsreihe an: Kaninchen, Meerschweinchen, Mensch, während die Blutkörperchen von Pferd, Schaf, Ziege, Ratte und Maus überhaupt nicht agglutiniert wurden.

Näheres über das Verhalten des Hämagglutinins für Menschenblut.

Um die Untersuchungen nicht allzusehr auszudehnen, wurden die allgemeinen Eigenschaften des Agglutinins nur gegen das Blut einer einzigen Spezies, des Menschen, untersucht.

I. Resistenz gegen physikalische und chemische Einflüsse.

1. Haltbarkeit des Saftes.

10 ccm eines am 21. IV. 25 gewonnenen und inaktivierten Kartoffelsaftes wurden zu gleichen Teilen mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, dann ausgewertet und im Eisschrank aufgehoben. Am 3. V. und 10. VI. wurde der Kartoffelsaft wiederum ausgewertet.

Versuch 5.

Auswertung des Kartoffelagglutinins unmittelbar nach der Gewinnung nach zweiwöchigem und nach zweimonatigem Stehen.

KS zuvor auf die Hälfte mit 0,9proz. NaCl-Lösung verdünnt.

Versuch vom 21. IV. 1925				Kontrolle 3. V.		Kontrolle 10. VI.	
KS	Blutk.	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h
0,5	0,2	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0,25	0,2	++++	++++	++++	++++	++++	++++
0,1	0,2	++++	++++	++++	++++	++++	++++
1/10 0,5	0,2	+++	++++	++	++++	++++	++++
0,25	0,2	++	++++	++	++++	+++(+)	++++
0,1	0,2	+(+)	+++(+)	+(+)	+++(+)	+++	+++
1/100 0,5	0,2	+	+++	++	+++	+	+++
0,25	0,2	+	++	+	++	±	++
0,1	0,2	+	+(+)	+	+(+)	−	+
1/1000 0,5	0,2	±	+	±	(+)	−	±
0,25	0,2	−	±	−	±	−	−
0,1	0,2	−	−	−	−	−	−

Wie der Versuch zeigt, hat sich die agglutinierende Fähigkeit des Kartoffelsaftes in nahezu unveränderter Stärke erhalten. Zahlenmäßig besteht zwar nach zwei Monaten eine Abschwächung um die Hälfte (kleinste agglutinierende Dosis frisch 0,0005; alt 0,001), es handelt sich aber nur um die Verschiebung eines Röhrchens, die möglicherweise noch innerhalb der Fehlergrenze liegt, besonders wenn man berücksichtigt, daß bei der zweiten und dritten Prüfung aus technischen Gründen andere Blutkörperchen als das erste Mal verwandt werden mußten.

2. Einfluß des Erhitzens auf das Kartoffelagglutinin.

Daß das Kartoffelagglutinin längeres Erhitzen auf 56° verträgt, ergibt sich aus Versuch 3. Das Verhalten des Agglutinins nach Einwirkung höherer Temperaturen zeigt nachstehender Versuch 6.

Versuch 6.

Einfluß des Erhitzens auf die agglutinierende Wirkung des Kartoffelsaftes.

Technik: Der konzentrierte Saft wurde in fünf Portionen geteilt, davon blieb eine unerhitzt, die anderen wurden im Wasserbad eine Stunde je auf 56, 60, 70, 80 bzw. 100° erhitzt.

Saftverdünnung	unerhitzt		Kartoffelsaft erhitzt auf									
	Zimmertemperat.		56°		60°		70°		80°		100°	
	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h
		Braunfärbg.										Hämolyse
0,5	++	Niederschlag	++++	++++	++	++++	++	++N	++	± N	+?	± Klump.
0,25	+	Hämolyse	+++	++++	++	++++	++	+++	+	++	+?	Klumpen
0,1	+	„	+++	+++(+)	++	+++	+	+++	+	+	±	±
1/10 0,5	++	„	+++	+++	++	++(+)	+	+	±	(+)	—	—
0,25	+	„	++	++(+)	++	++	±	(+)	±	±	—	—
0,1	+	±*)	++	++	+(+)	+(+)	±	—?	—	—	—	—
1/100 0,5	+	±	+(+)	+(+)	+(+)	+(+)	±	—	—	—	—	—
0,25	+	±	+(+)	+(+)	+	+	±	—	—	—	—	—
0,1	+	—	+	+	±	(+)	±	—	—	—	—	—
1/1000 0,5	±	—	(+)	+	±	+	—	—	—	—	—	—
0,25	±	—	±	(+)	±	±	—	—	—	—	—	—
0,1	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

N = Niederschlag.

*) Ablösung der Agglutination hier und in folgenden Röhrchen erschwert durch partielle Hämolyse.

Das Agglutinin wird also nach einstündigem Erhitzen auf 56° und 60° nur wenig, bei 70° stärker abgeschwächt, bei 80° ist die Wirksamkeit des Saftes bereits um das Zehnfache gesunken. Einstündiges Erhitzen auf 100° wirkte weiter schwächend, so daß keine sichere Agglutination mehr zu erhalten war. Erhitzen auf 60° und darüber führt also zu einer mit der Temperatur steigenden Abschwächung des Agglutinins. Auffällig gegenüber den Serumagglutininen ist dabei die Tatsache, daß eine völlige Zerstörung des Agglutinins erst bei ca. 100° erreicht wurde. Verglichen mit den Serumagglutininen besteht demnach eine relativ hohe Thermoresistenz. Das Kartoffelagglutinin teilt diese Eigenschaft mit anderen Phytagglutininen. So fanden z. B. Ruß und Oesterlin, daß das Sojaagglutinin nach viertelstündigem Erhitzen auf 80° noch eine gewisse, wenn auch verminderte agglutinierende Wirkung zeigt, während 5 Minuten langes Erhitzen auf 100° die Agglutinationsfähigkeit aufhebt. Aehnliche Angaben machte Wienhaus für das Phasin. Auch hier findet eine Abschwächung bei 80°, eine fast völlige Zerstörung bei Temperaturen über 90° statt. Die kleinen Unterschiede, die zwischen den einzelnen Phytagglutininen bestehen, sind nicht von grundlegender Bedeutung, da wir nach unseren sonstigen Erfahrungen über die Resistenz von Antikörpern dem Milieu, in dem sich der Antikörper befindet, einen wichtigen Einfluß zuschreiben müssen. Es ist z. B. nicht gleichgültig, ob das Agglutinin konzentriert oder in verdünntem Zustand erhitzt wird. Vielleicht ist auch die Stärke des jeweils benutzten Agglutinins nicht ohne Einfluß. Es ist also nicht zulässig, aus einem verschiedenen Verhalten bei der Erwärmung Schlüsse auf eine Wesensverschiedenheit der einzelnen pflanzlichen Hämagglutinine abzuleiten. Gemeinsam ist den bekannten Phytagglutininen jedenfalls, daß sie bei 70—80° mehr oder weniger abgeschwächt, bei 100° ca. zerstört werden.

3. Verhalten des Agglutinins unter Einwirkung von Chemikalien.

a) Phenolzusatz.

Der Zusatz von Phenol in der für das Konservieren der

agglutinierenden und immunisierenden Sera üblichen Verdünnung (0,5proz.) ändert die Titerstärke des Kartoffelagglutinins nicht. Siehe Versuch 7.

Versuch 7.
Wirkung des Agglutinins nach Zusatz von Phenol.

KS	+	Blutk.	nach 2h	nach 24h
	0,5	0,2	++++	++++
	0,25	0,2	++++	++++
	0,1	0,2	++++	++++
1/10	0,5	0,2	+++	+++
	0,25	0,2	+++	+++
	0,1	0,2	+++	+++
1/100	0,5	0,2	+++	+++
	0,25	0,2	++(+)	+++
	0,1	0,2	+	++
1/1000	0,5	0,2	(+)	+
	0,25	0,2	—	—
	0,1	0,2	—	—

b) Alkoholzusatz.

Die Wirkung des Alkohols auf das Kartoffelagglutinin wurde deshalb untersucht, weil entsprechende Beobachtungen auch an anderen Phytagglutininen vorliegen. Wird der native Kartoffelsaft zu gleichen Teilen mit absolutem Alkohol versetzt, so erhält man einen reichlichen Niederschlag. Dieser Niederschlag wurde durch mehrfaches Filtrieren mit gehärtetem Filtrierpapier von der Flüssigkeit gesondert. Dann wurden das Filtrat und davon getrennt der Filterrückstand auf ihre agglutinierenden Fähigkeiten geprüft.

Versuch 8.
Wirkung des Alkohols auf das Kartoffelagglutinin.

Technik: Der native Kartoffelsaft wird zu gleichen Teilen mit Alkohol versetzt, das Gemenge mehrmals filtriert, das Filtrat (Fi) ist eine gelbbraune klare Flüssigkeit; der Filterrückstand (Fr) wird auf das ursprüngliche Volumen wieder aufgefüllt. Zur Kontrolle wird der native Kartoffelsaft (KS) zur Hälfte mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt (= KO); ebenso wird Alkohol in entsprechenden Verdünnungen in seiner Wirkung auf Blutkörperchen geprüft (s. folgende Seite).

Wie der Versuch lehrt, hat die Einwirkung des Alkohols das Agglutinin weder geschädigt noch aus der Lösung ausgefällt, es ist vielmehr nahezu quantitativ im Filtrat enthalten. Der Bodensatz ist so gut wie unwirksam. Wichtig ist dieses Verhalten für die Zwecke der Reindarstellung. Da

Ausgeführt am 21. IV. 1925.

Saftverdünnung	KO		Fi		Fr		Alkohol-Kontrolle	
	Agglutination		Agglutination		Agglutinat.		Agglutin.	
	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h	n. 2h	n. 24h
1/10 0,5	+++	++++	+++	++++	(+)	+	—	—
0,25	++	++++	++	++++	—	—?	—	—
0,1	++	+++(+)	++	+++(+)	—	—	—	—
1/100 0,5	+(+)	+++	+	+++	—	—	—	—
0,25	+	++	+	++	—	—	—	—
0,1	+	+(+)	(+)	+	—	—	—	—
1/1000 0,5	±	+	—	±	—	—	—	—
0,25	—	±	—	—	—	—	—	—
0,1	—	—	—	—	—	—	—	—

Kontrolle des Versuches am 10. VI. 1925.

Saftverdünnung	KO		Fi	
	Agglutination		Agglutination	
	nach 2h	nach 24h	nach 2h	nach 24h
1/10 0,5	+++(+)	++++	++++	++++
0,25	+++(+)	++++	++++	++++
0,1	+++	+++	+++(+)	++++
1/100 0,5	+	+++	+++	+++
0,25	±	++	+++	+++
0,1	—	+	+(+)	++
1/1000 0,5	—	±	±	+
0,25	—	—	—	±
0,1	—	—	—	—

Der Kontrollversuch zeigt, daß das Alkoholfiltrat 2 Monate nach der Herstellung in seiner Wirksamkeit nicht geschwächt ist.

man bei Behandlung des Kartoffelsaftes mit Alkohol einen erheblichen wirkungslosen Niederschlag erhält, so läßt sich das Agglutinin auf diese Weise von vornherein von einem ansehnlichen Teil nichtwirksamer Beimengungen befreien. Das Kartoffelagglutinin verhält sich dem Alkohol gegenüber anders als die diesbezüglich untersuchten pflanzlichen Agglutinine. Das Agglutinin der Perlbohne findet sich nach Ruß und Oesterlin vollständig im Niederschlag, das Agglutinin der Sojabohne (vgl. Wienhaus) wenigsten zum größten Teil. Ein Schluß auf eine grundsätzliche chemische Verschiedenheit der wirksamen Stoffe läßt sich aber aus dem ungleichen Verhalten gegenüber Alkohol nicht ziehen. Auch hier sind ähnlich wie bei Einwirkung verschiedener Temperaturen möglicherweise Unterschiede des Mediums maßgebend. Es könnten z. B. im Bohnenextrakt Stoffe enthalten sein, die bei der

Ausfällung durch Alkohol das Agglutinin mit sich reißen, während andersartige Substanzen in der Kartoffel eine solche Wirkung nicht haben.

II. Spezifische Beziehungen zwischen Agglutinin und Blutkörperchen.

1. Verhalten des Agglutinins im einfachen Bindungsversuch.

Mischt man den Kartoffelsaft unter Vorsichtsmaßregeln, die die Hämolyse verhindern (Inaktivierung des Saftes oder geeignete Verdünnung), mit menschlichen Blutkörperchen, so kommt es zur Agglutination. Entfernt man nunmehr die agglutinierten Blutkörperchen durch Zentrifugieren, so hat die übriggebliebene Flüssigkeit ihr Agglutinationsvermögen nahezu ganz verloren. Das Agglutinin ist ebenso wie ein spezifisches tierisches Immun- oder Normalagglutinin von den Blutkörperchen gebunden worden. Der Versuch 9 sei als Beispiel wiedergegeben.

Versuch 9.

Agglutination von Menschenblut durch Kartoffelsaft.

Technik: Zu 2 ccm eines inaktivierten Kartoffelsaftes in der Verdünnung 1:40 werden 0,2 ccm vom Bodensatz gewaschener Blutkörperchen hinzugefügt. Dieses Gemenge bleibt 24 Stunden im Eisschrank stehen. Die zu einem Klumpen agglutinierten Blutkörperchen werden zentrifugiert und der Abguß auf seinen Gehalt an Kartoffelagglutinin geprüft.

Agglutination von Menschenblut durch Kartoffelsaft (älteres Material).

Saftverdünnung $^1/_{40}$ 0,1 ccm + 0,2 Blutkörperchenaufschwemmung.

Kartoffelsaft, unbehandelt			Kartoffelsaft, vorbehandelt mit Menschenblutkörperchen 38 + 62		
Blutk.	nach 2 h	nach 24 h	vorbehandelt mit Blutk. + Blutk.	nach 2 h	nach 24 h
58	+++	+++	38 + 58	(+)	±
51	++	++	38 + 51	±	±
45	+++	+++	38 + 45	—	—
49	+	++	38 + 49	—	—
65	+++	+++	38 + 65	—	—
38	++	++	38 + 38	—	—
91	++	++	62 + 91	—	—
99	+++	+++	62 + 99	—	+
200	+++	+++	62 + 200	—	±
14	++	+++	62 + 14	—	—
62	+++	+++	62 + 62	—	—

Die agglutinable bzw. die Agglutinin bindende Substanz haftet den Blutkörperchen fest an. Eine Abnahme der Agglunabilität war auch nach oftmals (6mal) wiederholtem Waschen nicht festzustellen. Dies ist deshalb von Interesse, weil in der Literatur vereinzelte Angaben über angebliche Auswaschbarkeit von Rezeptoren vorliegen. So haben z. B. Küster, Lange und Potthoff eine Abnahme der Agglutinierbarkeit durch Säure bei wiederholt gewaschenen Bakterien gesehen, und Schütz und Wöhlisch haben entsprechende Angaben für das Verhalten menschlicher Blutkörperchen gegenüber normalen Isoagglutininen gemacht.

Die bindenden Rezeptoren sind auch gegen Erhitzen sehr widerstandsfähig.

Versuch 10.

Bindung des Agglutinins durch erhitzte Menschenblutkörperchen.

Technik: Zu 2 ccm eines inaktivierten Kartoffelsaftes werden 0,2 ccm vom Bodensatz 5 Minuten auf 100° erhitzter Blutkörperchen hinzugefügt. Alles weitere genau wie Versuchstechnik bei Versuch 9.

Blutk.	Kartoffelsaft, Blutkörperchen nicht vorbehandelt		Kartoffelsaft, vorbehandelt mit erhitzten Blutkörperchen No. 38	
	nach 2h	nach 24h	nach 2h	nach 24h
58	+++	+++	(+)	+
51	+++	+++	+	+
45	+++	++(+)	+	+(+)
49	+++	+++	(+)	+
65	++	+	+	—
38	+++	+++	(+)	(+)

Wie aus dem Protokoll hervorgeht, binden die fünf Minuten auf 100° erhitzten Blutkörperchen nur wenig schwächer als die frischen Zellen. Die mit dem Kartoffelagglutinin reagierenden Rezeptoren verhalten sich also nach ihrer Hitzebeständigkeit ähnlich wie manche andere Blutkörperchenrezeptoren, z. B. wie diejenigen, die mit den Isoagglutininen des menschlichen Serums reagieren, und weiter auch wie diejenigen Rezeptoren der Schafblutkörperchen, die mit der Forssmannschen Quote der schafblutlosen Sera reagieren. Immerhin läßt sich aus dem mitgeteilten

Versuch nicht mit Sicherheit der Schluß ziehen, daß die das Phytagglutinin bindende Substanz der roten Blutkörperchen in toto koktostabil ist. Es ist möglich, daß neben den koktostabilen Rezeptoren noch ein wärmeempfindlicher, Agglutinin bindender Anteil vorhanden wäre, der an Bedeutung neben dem anderen allerdings zurücktreten würde.

2. Reversibilität der Agglutination und der Bindung.

Werden die agglutinierten Blutkörperchen vorsichtig erwärmt, z. B. auf 56°, so kommt es nach einigen Minuten je nach der Versuchsbedingung zu einer mehr oder weniger vollkommenen Desagglutination: die vorher verklumpten Blutkörperchen sind, wenn man die Röhrchen aus dem Wasserbad nimmt, nunmehr gleichmäßig verteilt oder sie lassen sich wenigstens durch Aufschütteln leicht so verteilen, daß eine mit bloßem Auge sichtbare Agglutination nicht mehr besteht.

Der Vorgang der Agglutination ist also reversibel. Es war zu vermuten, daß dasselbe auch für die Bindung des Agglutinins gilt. Nach der Untersuchung von Hahn und Trommsdorf, Landsteiner und zahlreichen anderen gelingt eine Sprengung des Antigen-Antikörperkomplexes bei Aenderung der chemischen Reaktion, bei Aenderung des Salzgehaltes, der Zusammensetzung des Medium und schließlich auch durch Erwärmung. Besonders schonend und einfach ist das letztere Verfahren; erleichternd ist in unserem Falle noch die im Vergleich zu anderen Antikörpern sehr hohe Thermoresistenz des Agglutinins.

Versuch 11.

Absprengung des von den Blutkörperchen gebundenen Agglutinins.

Technik: Zum Bodensatz von 2 ccm gewaschenem Vollblut werden 10 ccm Kartoffelsaft in der Verdünnung 1 : 40 hinzugefügt und das Gemisch für 48 Stunden in den Eisschrank gebracht. Die zu einem Klumpen agglutinierten Blutkörperchen werden mit eisgekühlter physiol. NaCl-Lösung mehrfach gewaschen. Das dritte Waschwasser erweist sich frei von Agglutininen. Nun wird wiederum mit physiologischer NaCl-Lösung auf das Anfangsvolumen aufgefüllt, kräftig

durchgeschüttelt und die Suspension auf 20 Minuten in ein Wasserbad von 56° gebracht, dann zentrifugiert und der Abguß ebenfalls auf seinen Agglutiningehalt geprüft. Dieser wirkt nunmehr kräftig agglutinierend, so daß also ein erheblicher Teil des ursprünglich gebundenen Agglutinins wieder in Lösung gegangen sein muß. Einzelheiten zeigt nachstehender Versuch.

Saftverdünnung 1:40	Kartoffelsaft + unbehandelte Blutkörperchen		Kartoffelsaft n. Vorbehandlg. mit Menschenbl.		Drittes Waschwasser d. agglut. Blutklumpens		Absprengungsflüssigkeit	
	Agglutination		Agglutination		Agglutination		Agglutination	
	nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h
0,5	++++	++++	+++	+++	—	—	++(+)	++(+
0,25	+++	+++	+++	+++	—	—	+(+)	++
0,05	++	++	++	++	—	—	+	(+)
0,025	+	+	—	—	—	—	±	(+)

3. Spezifität der Bindung.

Bei normalen Serumantikörpern, die also nicht durch Immunisierung mit einem bestimmten Antigen erzeugt sind, ist es unstatthaft, von spezifischen Reaktionen mit dem homologen „Antigen“ zu sprechen. Landsteiner hat darauf hingewiesen, daß eine ganze Reihe der in der Natur vorkommenden Hämagglutinine überhaupt eiweißfällend wirkt, so daß man die Agglutination der Erythrozyten als einen Spezialfall dieser allgemeinen eiweißfällenden Fähigkeit auffassen könnte. Wenn die Blutkörperchen mancher Tierarten der Agglutininwirkung besonders leicht zugänglich sind, so braucht man demgemäß hieraus nicht auf die Anwesenheit eines besonderen spezifischen Agglutinogens zu schließen, sondern es könnten einfach irgendwelche ganz unspezifischen Verhältnisse vorliegen, welche die Ausklumpung der roten Blutkörperchen bewirken.

Bis zu einem gewissen Grade lassen sich derartige sekundäre Beeinflussungen der Agglutination ausschalten, wenn der Gehalt des jeweiligen „Antigens“ an Agglutinin bindenden Substanzen geprüft wird. Ich habe deshalb untersucht, wieweit es gelingt, die Agglutination des Kartoffelsaftes für verschiedenartige Tierblutkörperchen im Bindungsversuch durch die Blutkörperchen anderer Tierspezies zu fixieren. Das Ergebnis dieser Versuche ist nachstehend in Form einer Tabelle zusammengestellt.

Versuch 12.

Unspezifische Bindung des Hämagglutinins durch die Blutkörperchen verschiedener Tierarten.

Blutkörperchen von	nicht vorbehandelt		Kartoffelsaft $^1/_{40}$ 0,1 ccm, vorbehandelt mit Blutkörperchen von:											
			Mensch		Kaninch.		Schwein		Pferd		Ratte		Rind	
	nach 2 h	nach 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h
Mensch	+++	++++	(+)	±	—	—	±	±	++	+(+)	(+)	±	—	—
Kaninch.	+++	+++	(+)	(+)	—	—	+	+	++	++	+	+	±	+
Schwein	+++	++++	±	±	—	—	±	(+)	++	+++	(+)	±	—	—
Ratte	++++	++++	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	+	++	±	—	—	±
Pferd	(+)	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Rind	(+)	(+)	—	—	—	—	—	—	++	+++	—	—	—	—

Anmerkung: Wegen der geringeren Empfindlichkeit der Blutkörperchen von Pferd und Rind wurden hier größere Saftmengen verwandt.

Die Tabelle zeigt, daß von einer strengen Spezifität derart, daß etwa jeweils voneinander unabhängige Agglutinine für jede Tierart existieren, nicht die Rede sein kann.

Die Blutkörperchen des Kaninchens haben das Agglutinin für alle anderen Blutkörperchen, mit Ausnahme derer der Ratte, gebunden; daß noch Rattenblutkörperchen agglutiniert werden, beweist aber nicht etwa die Anwesenheit eines spezifischen Rattenagglutinins, sondern es wird zweifellos mit der besonders hohen Empfindlichkeit der Rattenblutkörperchen zusammenhängen.

Die Vorbehandlung mit anderen Blutkörperchen hat zwar die Agglutinine nicht immer völlig entfernt; es bestehen aber keine erheblichen Unterschiede zwischen den Blutkörperchen der zur Bindung verwandten Tierart und denen anderer Arten. Es kommt mit Ausnahme der Pferdeblutkörperchen nicht vor, daß das Agglutinin für ein nicht zur Bindung verwandtes Blut noch in erheblich viel stärkerem Maße zurückgeblieben ist als für das homologe Blut. Man wird also annehmen dürfen, daß es sich im wesentlichen bei allen untersuchten Tierarten um gleichartige Rezeptoren handelt, die allerdings nicht immer in gleichen Mengen vorhanden sind.

Besonderes Interesse verdient das unterschiedliche Verhalten von Pferd und Rind. Beide Blutarten sind in direktem Agglutinationsversuch nur wenig empfindlich. Der Bindungs-

versuch zeigt, daß diese Unempfindlichkeit in jedem Fall eine besondere Ursache hat. Die schwer agglutinablen Blutkörperchen des Rindes haben ein kräftiges Bindungsvermögen. Die schlechte Agglutinabilität beruht hier also nicht auf Rezeptorenmangel, sondern es müssen sekundäre Verhältnisse vorliegen, welche die zweite Phase der Agglutination, die Ausflockung, behindern. Dagegen haben die Pferdeblutkörperchen das Agglutinin nur minimal gebunden. Man wird die schwere Agglutinierbarkeit auf einen Mangel an agglutininbindenden Rezeptoren zurückführen dürfen.

Verhalten der Blutkörperchen verschiedener Individuen.

Zeigten die vorstehenden Versuche nun auch, daß die Rezeptoren für das Kartoffelagglutinin unter den untersuchten Warmblütern weit verbreitet sind, so sollte doch noch geprüft werden, ob nicht bei verschiedenen Menschen individuelle Unterschiede in der Empfänglichkeit der Blutkörperchen für das Agglutinin der Kartoffel bestehen.

An diese Möglichkeit mußte gedacht werden, weil wir ja seit der Untersuchung Landsteiners über die Isoagglutinine des Menschen darüber unterrichtet sind, daß die Blutkörperchen mancher Individuen durch besondere serologische Eigentümlichkeiten gekennzeichnet sind. Es gibt eine Reihe von Menschen, bei denen auf Grund der Prüfung mit isoagglutininhaltigem menschlichem Serum ein besonderer Blutkörperchenrezeptor A, andere, bei denen ein Blutkörperchenrezeptor B angenommen wird. Entsprechend wäre es durchaus denkbar, daß die mit dem Kartoffelagglutinin reagierenden Blutkörperchenrezeptoren ebenfalls nur bei manchen Individuen auftreten.

Die weite Verbreitung derartiger Rezeptoren in der Tierreihe, wie sie aus den vorangegangenen Versuchen hervorgeht, schließt a priori die Möglichkeit individueller Unterschiede beim Menschen nicht aus, denn wir kennen auch andere Rezeptoren, die im Tierreich häufig vorkommen und sich bei allen Individuen bestimmter Tierarten nachweisen lassen, während sie beim Menschen nur bei manchen Individuen vorhanden sind (vgl. die neueren Untersuchungen über das Forssmannsche Antigen von Schiff und Adelsberger,

Dölter). Zur Untersuchung dieser Frage wurden deshalb die Blutkörperchen einer großen Reihe von Personen auf ihr Verhalten gegenüber dem Kartoffelagglutinin untersucht.

Das Kartoffelagglutinin wurde zunächst gegen ein bestimmtes Blut (die Blutkörperchen wurden durch mehrmaliges Waschen stets sorgfältig von anhaftendem Serum befreit) ausgewertet. Alsdann wurden die zu prüfenden Blutkörperchen in zwei Reihen angesetzt. In der ersten Reihe wurde eine eben noch kräftig agglutinierende Dosis, in der zweiten die $2^1/_2$fach stärkere Dosis des Agglutinins verwandt. Die Ablesung erfolgte wie üblich nach 2 und nach 24 Stunden. Siehe folgenden Versuch.

Versuch 13.
Wirkung des Kartoffelsaftes auf verschiedene Menschenblutkörperchen.

Blkp.	KS $^1/_{100}$ 0,25 ccm		KS $^1/_{100}$ 0,1 ccm		Blkp.	KS $^1/_{100}$ 0,1 ccm	
	n. 2 h	n. 24 h	n. 2 h	n. 24 h		n. 2 h	n. 24 h
89	+	++++	+	+++	58	+++	+++
91	(+)	++++	±	+	51	++	++
98	++	++++	±	+	45	+++(+)	++++
95	±	+++	—	++	49	+++(+)	+++
4	+	++++	+	+++	65	++	++
99	+(+)	++++	+(+)	++++	52	+	++
87	+	+++	+	++	38 Nabelschnurblut	±	(+)
3	(+)	++++	+	+++(+)	62 Nabelschnurblut	(+)	—
83	+	++++	+	+++			
1	+(+)	++++	+	+++			
10	+(+)	++++	+(+)	+++			
2	++	+++	+	++			
93	+++	++++	+	+++			
8	+	++++	(+)	+++(+)			
7	+	++++	+(+)	+++(+)			
85	+++	++++	(+)	+++			
200	+++	+++	+	—?			
5	+	++++	+(+)	+++			
14	+++	++++	+(+)	++++			
17	++(+)	+++	(+)	(+)			
13	+++	++++	+	+++			
15	++	++++	(+)	++			
25	+	+++	±	+++			
77	+	++++	(+)	+++			
162	++++	++++	++	++++			

Anmerkung: Der linke Teil der Tabelle bezieht sich auf einen am 10. V., der rechte Teil auf einen am 14. V. angesetzten Versuch. Bei dem zweiten Versuch ist auf die Reihe mit 0,25 ccm Kartoffelsaft verzichtet worden.

Ueberblicken wir zunächst die Resultate, die sich auf die schwächer wirksame Dosis beziehen, so sehen wir nach 2 Stunden graduelle Unterschiede; nur eine Blutprobe war überhaupt noch nicht agglutiniert. Auch in diesem Falle handelte es sich nicht um einen völligen Mangel an Rezeptoren, sondern um ein besonders langsames Eintreten der Agglutination. Nach 24 Stunden waren auch diese Blutkörperchen deutlich, wenn auch schwach agglutiniert. Unterschiede, wie sie innerhalb der Spezies Mensch mit Hilfe bestimmter Isoagglutinine nachweisbar sind, nämlich Gruppen von Menschen mit empfindlichen und solche mit völlig unempfindlichen Blutkörperchen, haben sich bisher nicht feststellen lassen. Betrachten wir die Reihe mit der stärker agglutinierenden Dosis, so sind die Unterschiede noch geringer.

Es wurde nun versucht, in Stichproben festzustellen, ob in der Titerstärke zum Ausdruck kommende Unterschiede bestehen. Der Kartoffelsaft wurde gegenüber einigen schwach und langsam reagierenden sowie gegenüber einigen besonders leicht agglutinablen Blutkörperchenproben ausgewertet. Es ergaben sich dabei immer dieselben Grenzwerte für die eben noch wirksamen Dosen.

Der Rezeptor für das Kartoffelagglutinin scheint also regelmäßig beim Menschen vorzukommen, wenn auch gewisse quantitative Unterschiede vorhanden sein mögen.

Im Hinblick auf Versuche von Dölter mußte daran gedacht werden, ob nicht der im wesentlichen negative Ausfall der Versuche zur Feststellung individueller Unterschiede nur auf unzweckmäßigen Versuchsbedingungen beruhen konnte. Dölter hat bei der Untersuchung verschiedener Immunsera auf gruppenspezifisches Verhalten gegenüber menschlichen Blutkörperchen festgestellt, daß die Temperatur einen wesentlichen Einfluß ausübt. Ließ er die Reaktion bei Zimmertemperatur ablaufen, so stand die artspezifische Agglutination im Vordergrund, dagegen ließen sich bei 37° gruppenspezifische Reaktionen, die bei Zimmertemperatur durch die artspezifischen überlagert waren, deutlich erkennen.

Ich habe deshalb Versuche nach dem Schema des oben wiedergegebenen Versuchs No. 13 auch bei 37° angestellt. Die Agglutinationsreaktion fiel im allgemeinen bei Brut-

schranktemperatur erheblich schwächer aus. Stärkere individuelle Unterschiede waren aber nicht festzustellen. Weiterhin wäre es vom klinischen Standpunkt aus bedeutungsvoll, ob etwa Personen, bei denen eine Ueberempfindlichkeit gegen Kartoffel besteht, im Verhalten ihrer Blutkörperchen oder des Serums gegenüber Kartoffelsaft in vitro irgendwelche Besonderheiten zeigen. Aus der Klinik von Widal sind derartige Fälle beschrieben worden, ohne daß aber serologische Untersuchungen ausgeführt wurden.

Es wäre immerhin von Interesse, an einem erheblich größeren Material zu prüfen, ob die quantitativen Unterschiede, wie sie in unserer Tabelle angedeutet sind, auf Besonderheiten der Erbkonstitution beruhen und ob nicht doch bei einzelnen Individuen dieser Rezeptor fehlt.

Erwähnenswert ist noch das Verhalten von Nabelschnurblut. Derartiges Blut war durchweg gar nicht oder nur sehr schwer agglutinabel. Zur Erklärung dieses Verhaltens kann man zwar mit v. Oettingen und anderen die besonderen physikalischen und chemischen Verhältnisse des Nabelschnurblutes heranziehen. Man wird aber außerdem daran denken müssen, daß auch andere Blutkörperchenrezeptoren sich erst allmählich im Verlauf der Ontogenese entwickeln. So wissen wir, daß die mit den Isoagglutininen reagierenden Blutkörperchenrezeptoren bei der Geburt noch nicht immer voll entwickelt sind, und für die heterogenetischen Rezeptoren des Huhns hat Kritschewsky gezeigt, daß sie erst von einem bestimmten Entwicklungsstadium an nachweisbar werden.

Hemmung der Agglutination durch Serum.

Es war daran zu denken, daß die Unterschiede im individuellen Verhalten der Blutkörperchen durch den Einfluß anhaftender Serumreste hervorgerufen waren. Es wurde deshalb geprüft, ob und in welchem Grade menschliches Serum die Agglutination von Menschenblutkörperchen durch Kartoffelsaft beeinflußt. Es wurden Sera verschiedener Menschen in Mengen von 0,2 und 0,1 ccm mit bestimmten Blutkörperchen vermischt und Kartoffelsaft in einer deutlich wirksamen Dosis hinzugefügt. Um die Wirkung der hier nicht interessierenden Isoagglutinine auszuschalten, wurden als Test-

blutkörperchen stets solche der Gruppe I (O α β) gewählt, welche gemäß ihrer Gruppenzugehörigkeit auf Isoagglutinine überhaupt nicht ansprechen. Das Verhalten von 12 verschiedenen Sera zeigt der nachstehende Versuch 14.

Versuch 14.
Hemmung der Agglutination durch verschiedene Sera.

Klinische Diagnose	Kartoffelsaft $^1/_{100}$ 0,1 + Blutk. 0,2 + Serum 0,2		Kartoffelsaft $^1/_{100}$ 0,1 + Blutk. 0,2 + Serum 0,1	
	nach 2 h	nach 24 h	nach 2 h	nach 24 h
Lues II	—	—	+	+
Lues II	—	—	+	++
Herzinsuffizienz	—	—	—?	±
Grippe	—	—	+	+
Angina	±	±	+	+(+)
Cholelithiasis	—	—	+	+(+)
Herzinsuffizienz	—	—	+	+
Prostatahypertrophie	—	—	—	—
Herzleiden	—	—	±	+
Lungentuberkulose	—	±	+	++
Endocarditis	+	+	++	+++
Angina	+	(+)	++	++

Ein Parallelversuch wurde auch mit inaktiviertem Serum angestellt, das Ergebnis war grundsätzlich das gleiche.

Das Serum übt also in den stärkeren Dosen regelmäßig eine Hemmungswirkung aus. Die Hemmung ist in der Mehrzahl der Fälle absolut. 2mal ist eine gegen die Kontrolle allerdings sehr herabgesetzte Agglutination noch zu erkennen. Bei einer schwächeren Dosis ist in der Mehrzahl der Röhrchen eine Agglutination zustande gekommen. Einige Sera haben aber auch in der kleineren Dosis die Agglutination völlig gehemmt.

Es bestehen also in der Tat individuelle Unterschiede der Sera hinsichtlich ihres hemmenden Einflusses auf die Agglutination. Worauf diese Unterschiede beruhen, läßt sich ohne weiteres nicht erkennen. Zur Aufklärung werden noch weitere Untersuchungen erforderlich sein.

Zum Vergleich sei an die Arbeiten von Much und Holzmann über die Hemmung der Kobragifthämolyse durch menschliches Serum erinnert. Diese Autoren wollten seinerzeit in dem Auftreten der Hemmungswirkung ein insbesondere bei Geisteskranken diagnostisch verwertbares Merkmal gefunden haben, eine Angabe, die durch spätere Nachunter-

suchungen nicht bestätigt werden konnte. In unserem Falle könnte die Hemmungswirkung durch irgendwelche akzidentell, z. B. auch im Verlauf von Krankheiten auftretende Stoffe hervorgerufen sein, es könnte andererseits aber auch hier die Erbkonstitution eine Rolle spielen.

Zusammenfassung.

1) Im Saft von noch nicht ausgekeimten Kartoffeln kommt regelmäßig ein Agglutinin für Säugetiererythrozyten vor. Gegenüber den hochempfindlichen Blutkörperchen der Ratte war das Agglutinin noch in 50000facher Verdünnung wirksam, die am wenigsten empfindlichen Blutkörperchen von Pferd und Rind wurden nur bis zu Verdünnungen 1:20 bzw. 1:50 agglutiniert. Eine Zwischenstellung hinsichtlich der Empfindlichkeit nehmen die Blutkörperchen von Kaninchen, Mensch, Meerschweinchen, Schwein, Maus, Hammel ein.

2) Das Agglutinin verträgt einstündiges Erhitzen auf 60°. Bei stärkerem Erwärmen wird es abgeschwächt, bei Erhitzen auf 100° vernichtet. Bei Aufbewahrung im Eiskasten ist das Agglutinin wenigstens 2 Monate nahezu unvermindert haltbar. Durch Zusatz von Phenol sowie Alkohol wird das Agglutinin weder abgeschwächt noch ausgefällt.

3) Das Agglutinin wird durch die empfindlichen Blutkörperchen adsorbiert. Es läßt sich durch Erwärmen von den Blutkörperchen wieder trennen.

4) Die bindenden Substanzen der Blutkörperchen sind zumindest teilweise koktostabil.

5) Die bindenden Substanzen verschiedener Tierarten sind unter sich im wesentlichen identisch.

6) Bei Untersuchung der Blutkörperchensorten verschiedener Menschen finden sich mäßige quantitative Unterschiede. Einzelne Blutproben werden schwächer agglutiniert. Anhaltspunkte für das Auftreten qualitativer Rezeptorendifferenzen bei verschiedenen Individuen haben sich nicht ergeben.

7) Menschliches Serum in hoher Konzentration verhindert das Zustandekommen der Agglutination. Die Hemmungswirkung wird sowohl durch frisches wie auch durch inaktiviertes Serum ausgeübt.

Bei quantitativer Untersuchung ergeben sich erhebliche individuelle Unterschiede in der Hemmungswirkung der verschiedenen Sera.

Literatur.

Abel und Ford, Biochem. Zeitschr., Bd. 2, 1907, No. 4.
Aßmann, Pflügers Arch., Bd. 137, 1911.
Brossa, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, 1912.
Dölter, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie, Bd. 43, 1925, S. 128.
Durham, Arch. f. Hyg., Bd. 81, 1913, S. 273.
Eisler und v. Pfortheim, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1908, S. 151.
Elfstrand, Görbersdorfer Veröffentl., Bd. 1, 1898, No. 1.
Fränkel, Hofm. Beitr., Bd. 4, 1904, S. 224.
Hahn und Trommsdorf, Münch. med. Wochenschr., 1900, S. 431.
Hellin, Inaug.-Dissert. Dorpat, 1891.
Hirschfeld, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911.
Jacoby, Hofm. Beitr., Bd. 6, 1904, S. 118.
— Arch. f. exp. Path., Bd. 46, 1901, S. 28.
— Heffters Handb. d. exp. Pharm., Bd. 2, 2.
Kobert, Landwirtschaftl. Versuchsstat., Bd. 79 u. 80, 1913.
Komatsuhara, Mitt. Med. Ges. Tokio, Bd. 36, 1922, 2.
Kritschewsky, Journ. of infect. Diseases, Vol. 32, 1923.
Küster, Lange und Potthoff, Centralbl. f. Bakt., Bd. 85, 1914, S. 132.
Landsteiner, Oppenheimers Handb. d. Bioch., 1. Aufl., Bd. 2, 1910.
— Münch. med. Wochenschr., 1902, No. 46.
— Centralbl. f. Bakt., Bd. 27, 1900, S. 357.
— Wien. klin. Wochenschr., 1901, S. 1132.
— und Leiner, Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, 1905, S. 548.
— und Raubitschek, Centralbl. f. Bakt., Bd. 45, 1907, S. 660.
Lau, Diss. Rostock, 1901.
Much und Holzmann, Münch. med. Wochenschr., 1909, No. 20.
v. Oettingen, Münch. med. Wochenschr., 1921, S. 351.
Raubitschek, Zeitschr. f. Immunitätsf., Referate, 1910, S. 181.
Ruß und Oesterlin, Biochem. Zeitschr., 1921, 114, 258.
Schiff, Oppenheimers Handb. d. Biochemie, 1924.
— Klin. Wochenschr., 1924, No. 16.
— und Adelsberger, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 40, 1924.
Schütz und Wöhlisch, Klin. Wochenschr., 1924, No. 36.
Stillmark, Arbeiten a. d. Pharmakolog. Inst. zu Dorpat, 1889.
Wienhaus, Biochem. Zeitschr., Bd. 18, 1909.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. Schiff für die gütige Ueberlassung und freundliche Unterstützung dieser Arbeit zu danken.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Lebenslauf.

Geboren am 20. Juli 1899 als Tochter des Kaufmanns Wolf Begun zu Danzig, besuchte ich daselbst das Realgymnasium und bestand am 1. März 1918 das Abiturientenexamen. Ich studierte dann Medizin an den Universitäten Königsberg und Berlin, bestand an letzterer im Juli 1920 das medizinische Vorexamen, setzte das Studium fort an den Universitäten Berlin, Freiburg, München, Heidelberg, bestand an letztgenannter Universität das medizinische Staatsexamen im Mai 1923. Das praktische Jahr absolvierte ich: vom Juli bis September 1923 am Städtischen Krankenhaus zu Danzig, von Oktober 1923 bis Juli 1924 an der inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses am Friedrichshain. Von August 1924 bis Juli 1925 war ich als Volontärin an der gleichen Stelle beschäftigt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.